



Fra laboratorium til produktion

Foreløbig rapport fra det første demonstrationsforsøg med klonede nordmannsgran

Find, Jens Iver

Published in:
Nåledrys

Publication date:
2014

Document version
Peer-review version

Citation for published version (APA):

Find, J. I. (2014). Fra laboratorium til produktion: Foreløbig rapport fra det første demonstrationsforsøg med klonede nordmannsgran. *Nåledrys*, (89), 44-49.



Fra laboratorium til produktion

– Foreløbig rapport fra det
første demonstrationsforsøg med
klonede Nordmannsgran.

Af Jens I. Find

Baggrund

I både landbruget og i gartnerier foregår der løbende en intensiv forædling af plantemateriale, der har stor betydning for stadigt stigende kvalitet og udbytte. I skovbruget er der ikke sket en tilsvarende forædling. Det skyldes, at træforædling er meget tidskrævende og at vegetativ formering har været vanskelig for mange træer.

Nordmannsgran til dansk juletræsproduktion produceres udelukkende fra frø. Frøene stammer fra naturlige bevoksninger i Georgien og fra de danske frøbevoksninger og frøplantager. Der gøres et stort arbejde for at forbedre og sikre kvaliteten af frømateriale, men der vil altid være en genetisk variation i planter, der produceres fra frø. De danske producenter må derfor acceptere en stor variation i træernes kvalitet og et spild af træer på op imod 20 %. Et yderligere problem er varierende frøsætning fra år til år i både danske og i udenlandske bevoksninger. Det betyder, at udbuddet af kvalitetsfrø er meget varierende og vanskeligt at forudsige. Med jævne mellemrum opstår der mangel på frø, og det kan være svært at sikre kvaliteten af importeret frø.



for andre afgrøder, kan nu også bruges til træer (Find et al. 2002a, 2002b). Disse metoder er også udviklet for nordmannsgran, og denne artikel beskriver de første klonforsøg, der i 2007 blev anlagt med vegetativt formerede nordmannsgran.

Vegetativ formering ved kunstig kimdannelse

Traditionelle metoder til vegetativ formering, såsom stiklingeformering, er ikke effektive for nordmannsgran, fordi roddannelsen

GLOBAL G.A.P.

certificering udføres af

AgroManagement

Kontakt Inge Bodil Jochumsen

Tlf. 51 24 4989 eller

www.agromanagement.dk

Skovningssæt

Dansk Skovkontor A/S

Danmarks største udvalg af godkendt, påkrævet beklædning til motorsavsbrug.

Sætpriis fra 949,- kr

(model standard gummistøvler, overall og hjelmsæt)

til 3500,- kr (goretex airstream læderstøvler og stretch-air kevlar extreme bukser, hjelmsæt efter ønske).

Priser excl. moms. Lagerføres i størrelse 46 - 58 /

41 - 47, nogle læderstøvler str. 37 - 50

Dansk Skovkontor A/S . Tlf. 57 83 01 10

www.dansk-skovkontor.dk

For nordmannsgran vil det, ligesom for mange pryplanter, være ideelt at kombinere den eksisterende forædling med vegetativ formering af udvalgte planter. Fordelen ved vegetativ formering (kloning) er, at man kan producere et stort antal planter, der er fuldstændig genetisk ens – ligesom enæggede tvillinger. Det vil forkorte forædlingstiden og sikre en ensartet produktion af kvalitetsplanter, så det inden for en tidsramme på 10-15 år er muligt at teste og producere forædlede genotyper i et antal, som kan dække markedet.

I de senere år er der sket et gennembrud i udvikling af bioteknologi inden for skovbruget. Mange arter af nåletræer kan i dag formeres vegetativt og de bioteknologiske metoder, der er kendt

**Peter Schjøtt's
Planteskole**

Barrod og Plugs, flere størrelser:

Ambrolauri Tiugi

Nikordsminda

Borjomi

Tversted F.527

Ussinggaard F.721

Mosemark FP.251

Silkeborg Nordskov FP.259

Skibelund FP.266

Skelhusmarken FP.272

Nybo afd. 12 C

Yayla

Hedegårdvej 5

7361 Ejstrupholm

Tlf. 75 772 552

p.s@planteskole.dk

www.planteskole.dk



Figur. 1. Vegetativ formering af nordmannsgran ved kunstig kimdannelse. A. Cellekultur der vokser på særlige næringsmedier. Kulturerne består af et meget stort antal unge kim. Kimene svarer fuldstændig til kim, der dannes i et frø efter befrugtning. Antallet af kim fordobles i løbet af 14 dage, og metoden er derfor meget effektiv til vegetativ formering/kloning af udvalgte træer. B. Modne kim efter modning i 12 uger. Kimene kan udvikle sig til spiredygtige modne kim ved at ændre sammensætningen af næringsmedierne. C. Spirede kim. De kunstige kim spirer ligesom kim fra frø, og der kan dannes et meget stort antal planter, der er genetisk ens ligesom enæggede tvillinger. D. Små planter i plugsystem. E. Planter i væksthush. Juni 2014. F. Tre planter fra samme klon i anden vækstsæson, juni 2014. Planterne er klar til udplantering i klonforsøg i efteråret 2014.

er dårlig, og fordi der er tendens til en grenlignende vækst. Et alternativ er kunstig kimdannelse (figur 1).

Formering af nåletræer ved kunstig kimdannelse er i dag mulig for flere end 40 arter af nåletræer. Metoden tillader en vegetativ formering/kloning, og i princippet kan der fra en cellekultur dannes et uendeligt antal genetisk ens planter. Metoden er også udviklet for nordmannsgran på Vækskulturlaboratoriet på Københavns Universitet. Det begyndte for 25 år siden (Nørgaard og

Krogstrup 1991) og i dag er metoderne så gode, at de kan testes i kommerciel målestok.

I øjeblikket er det stadig kun muligt, at etablere kunstig kimdannelse fra meget ungt plantemateriale. Man kender derfor ikke klonernes egenskaber, når cellekulturerne etableres. På baggrund af markforsøg med et stort antal kloner, udvælges de bedste kloner efter seks til otte år. Disse kloner bliver brugt til produktion af planter. I afprøvningsperioden nedfryses kulturerne i en genbank i flydende kvælstof ved -196°C .

Elitekloner bliver udvalgt på baggrund af vækst og form, men andre egenskaber kan også vise sig at være værdifulde. Angreb af svampen *Neonectria neomacrospora* har i de seneste år forvoldt alvorlige skader i kulturer af nordmannsgran, og kan blive et alvorligt problem for danske producenter (Thomsen et al. 2014). Der er i dag ingen egentlig mulighed for at bekæmpe *Neonectria*, men både laboratorieforsøg og feltobservationer tyder på store genetisk variationer i modtagelighed over for infektionen (Thomsen et al. 2014), og identifikation af resistente kloner vil være meget værdifuld for erhvervet.

Demonstrationsplantning

I efteråret 2007 blev et mindre demonstrationsforsøg med cirka 400 planter fra ni kloner anlagt på Lundbygård Gods på

Genotype	Antal
G02.258	123
G03.157	13
G99.23	60
G03.113	77
G02.217	43
G02.210	2
G03.094	3
G03.161	3
G83.42	3
Ukendt	52
I alt	379

Tabel 1. Klonforsøg, Lundbygård Gods. Genotyper og antal planter fra hver genotype. "Ukendt" dækker over planter, hvor klonmærkningen er forsvundet.

Sydsjælland (figur 2). Disse planter er nu seks vækstsæsoner gamle. Formålet med forsøget var at undersøge væksten af planter dannet ved kunstig kimdannelse og at undersøge ensartethed af planter inden for samme klon.

Det var på det tidspunkt ikke muligt, at anlægge et videnskabeligt velafbalanceret klonforsøg, fordi der var stor forskel i antallet af planter fra hver enkelt klon (tabel 1). Planterne fra klonerne blev ikke blandet tilfældigt, men blev derimod plantet i rækker for at vise ensartetheden inden for hver klon. Endelig blev der ikke inkluderet nogen kontrol med frøformerede planter. Resultaterne er alligevel spændende, fordi forsøget er det første af sin art for nordmannsgran.

I et forsøg på at beskrive vækst og udseende blev en række parametre målt på træerne. Resultaterne fra målinger på klonerne blev sammenlignet med målinger på en frøformeret bevoksning på Lundbygård gods (figur 3), som var af samme alder, som de klonede planter. I modsætning til klonforsøget var de frøformerede træer plejede og trimmede for at forbedre kvaliteten.

Der var stor statistisk variation i målinger på frøformerede planter, og for nogle af klonerne var der kun tale om to til tre planter. Der var derfor stor statistisk usikkerhed på nogle målinger, og sammenligningen med frøformerede planter var kun en generel illustration af klonede planters vækst. Målte værdier bliver opgivet som gennemsnit +/- standard afvigelse. Træerne blev målt og vurderet den 25. maj 2014, hvor de netop var begyndt at springe ud. Dette var også tilfældet for højden, hvilket gav yderligere usikkerhed på denne måling.

Ensartethed

De ni kloner var indbyrdes meget forskellige, på samme måde som ni tilfældigt udvalgte træer med forskellig baggrund (figur 2). Der var derimod ingen tvivl om, at træer fra samme klon var meget ens. Arven slog stærkt igennem, og det var nemt at skelne den ene klon fra den anden (figur 2). Specielt nålefarve, form og udspring var meget ens inden for samme klon. En stor del af variationen, der blev målt på planter fra samme klon, stammede fra tidligere fysiske skader på træer. En del af kulturen har på et tidspunkt været vandlidende, og det kunne også ses på væksten i de berørte områder.

Kvalitetsbedømmelse

Vi fik hjælp af en erfaren medarbejder på Lundbygård Gods til at lave en handelsvurdering af planterne. Planter blev vurderet på en skala fra 1 til 3. Dårligste kvalitet fik karakteren 1 og bed-



Figur 3. Afdeling 19 på Lundbygård gods, der blev brugt til reference for de klonede træer. I modsætning til klonforsøget var træerne i afd. 19 plejede og trimmede for at øge udbyttet. Træerne er aldersmæssigt sammenlignelige med træerne i figur 2.

ste kvalitet fik karakteren 3. Planter, der ikke kunne sælges på grund af skader eller misvækst, faldt udenfor vurdering.

Forsøget omfattede ni kloner, og sandsynligheden for at finde et elitetræ var af den grund lille. Den svarede statistisk til at finde et elitetræ imellem ni helt tilfældigt udvalgte træer i en frøformet bevoksning. Det var derfor spændende, om der var en eller flere af de testede kloner, der havde potentiale i en kommerciel produktion. I en vurdering i 2012 blev klon G02.217 udvalgt som en særligt lovende klon. Denne klon udmærkede sig ved at være mørk grøn, ved at have spidse vinkler ved grenene og ved at være højere end de øvrige kloner. En anden klon, G02.258, blev i 2012 også vurderet som lovende med lange fyldige nåle og en tæt vækst. I foråret 2014 viste det sig, at klon G02.217 havde udviklet sig dårligt. Den var vokset i højden, uden tilsvarende tilvækst i sidegrene. Klon G02.258 blev i 2014 stadig vurderet som pæn, men fra et kommercielt synspunkt var den alt for lille. Som pottetræ kan den lave og tætte vækst muligvis have interesse. I årets opmåling var en tredje klon, G83.42, mest lovende med en samlet kvalitetsvurdering på 3,0 +/- 0,0. Træerne blev vurderet som tætte, harmoniske, fyldige og flotte træer. Der var kun tre træer i denne klon, men de var fuldstændig ens, hvilket er vigtigt i en kommerciel sammenhæng (figur 4). En interessant klon, som man kan inddrage i yderligere markforsøg.

Målinger

Udspring af topknop

Målingerne blev foretaget den 25. maj, og viste stor genetisk kontrol af udspringningstidspunktet. Udspring af topknoppen



Figur 2. Klonforsøg. 400 planter fra ni kloner. Lundbygård Gods, maj 2014.



Figur 4. Klon G83.42. Klonen blev i juni 2014 vurderet som den bedste af de ni testede kloner og træerne blev beskrevet som tætte, harmoniske, fyldige og flotte træer. Der var kun tre planter fra denne klon, men som det fremgår af fotografierne var de meget ens i vækst, form og frodighed. Efter seks vækstsæsoner, inden udspring i 2014, var klonen i gennemsnit: 98 +/- 8 cm høj, topskuddet var 24 +/- 3 cm, der var 4,6 +/- 0,6 knopper omkring topskuddet og 4,4 +/- 0,6 grene i 1. grenkrans, udpring blev på en skala fra 1 til 3 vurderet til 2,0 +/- 0,0 og endelig blev kvaliteten bedømt til 3,0 +/- 0,0 på en skala fra 1 til 3. Til sammenligning var gennemsnittet for 142 tilfældigt udvalgte, men trimmede, frøformerede planter: højde 118,6 +/- 24,3 cm, topskud 35,6 +/- 9,0 cm, 5,2 +/- 1,7 knopper omkring topskuddet, 4,8 +/- 1,1 grene i 1. grenkrans, udspring blev vurderet til 1,8 +/- 1,2. Den gennemsnitlige kvalitet blev ikke vurderet for frøformerede planter.

blev vurderet i forhold til en skala fra 1 til 5, hvor 1 betød, at der ikke var tegn på begyndende udspring, imens 5 betød at knoppen var fuldt udsprunget. I den frøformerede bevoksning (afd. 19) blev det gennemsnitlige udspring vurderet til 1,8 +/- 1,2. Udspringstidspunkt var ensartet i planter fra samme klon. En enkelt klon var slet ikke begyndt at springe ud og blev vurderet til 1,0 +/- 0,0, imens en anden klon var næste fuldt udsprunget med en vurdering på 4,8 +/- 0,4. Resultatet viste en tydelig effekt af vegetativ formering, og kan også have praktisk betydning, da tidspunktet for udspring efter al sandsynlighed er en af de vigtigste faktorer i forhold til frosttolerance. Man kan derfor lede efter kloner med øget frosttolerance blandt kloner med sent udspring.

Højde

En af klonerne var i gennemsnit højere end tilsvarende frøformerede træer, og højden af de ni kloner lå alle inden for den statistiske usikkerhed på målingerne på frøformerede planter. Generelt var klonerne dog lavere end træerne i afd. 19. Det passer godt med, at det i 2007 blev vurderet, at klonede planter mistede ét vækst-år ved omplantning fra laboratorieforhold til jord. Metodemæssigt, er der sket en stor udvikling på netop dette område, og i dag er de første års vækst af klonede planter fuldt sammenlignelig med de frøformerede planter (figur 1, foto E og F).

Længde af topskud

Der var en tydelig sammenhæng imellem træernes samlede højde og længden af sidste års topskud. Gennemsnitlig var topskudslængden hos de klonede træer ikke statistisk forskellig fra de frøformerede træer. Længden af topskuddet var ensartet inden for hver enkelt klon, men der var statistisk sikker forskel imellem klonerne. Den hurtigt voksende klon, G03.161, havde topskud på 40,3 +/- 4,2 cm imens en af de laveste kloner, G03.094, havde topskud på 13,7 +/- 0,6 cm. Gennemsnittet hos de frøformerede planter var til sammenligning 35,6 +/- 9,0 cm. Topskudsregulering er i dag nødvendigt og yderst arbejdskrævende. Resultatet viser, at topskudslængden er genetisk betinget, og at det også er en faktor, som kan bruges ved udvælgelse af kloner.

Antal knopper rundt om topskuddet

Der var ingen statistisk forskel imellem antallet af knopper rundt om topskuddet for de klonede planter og frøformerede planter. Det samme var tilfældet for antallet af grene i grenkransene. Man kunne forvente, at antallet af grene i grenkransene var under stærk genetisk kontrol, og derfor var nær konstant imellem planter fra samme klon. Den statistiske variation i antal knopper og grene per grenkrans var i alle tilfælde mindre hos de klonede planter end hos de frøformerede planter, men resultaterne var ikke statistisk sikre. Der skal laves yderligere forskning for at dokumentere dette.

LAD OS VÆRE DIN LEVERANDØR AF KVALITETSPLANTER



FORSTPLANT
www.forstplant.dk

Hvis proveniensen findes i markedet, så skaffer vi den!

Forstplant ApS | Ribevej 47 | DK - 8723 Løsning | T: 2138 8675 | F: 7565 0575 | E: forstplant@forstplant.dk | www.forstplant.dk

Konklusion

Generelt var vækst og udvikling af klonede planter dannet ved kunstig kimdannelse sammenlignelig med væksten af frøformerede planter.

Det var dog tydeligt, at genetikken var vigtig for træets udvikling og vækst. Den genetiske effekt viste sig på de fleste af de målte parametre ved at den statistiske variation var mindre end hos tilsvarende frøformerede planter. Der var en udpræget ensartethed i alle parametre hos planter fra samme klon.

Der var sikre statistiske forskelle imellem de ni testede kloner på kvalitet, højde, topskudslængde og udspringstidspunkt. Dette til trods for, at målinger blev svækket af statistisk usikkerhed på materialet.

Den salgsmæssige kvalitet var meget varierende imellem klonerne. Klon G83.42 blev bedømt til at have kommerciel værdi. Klonen var repræsenteret af tre træer og der blev observeret stor ensartethed indenfor klonen. Ligesom i gartnerierhvervet er ensartetheden i sig selv en vigtig parameter for at reducere produktionsomkostningerne.

Resultaterne viste, at vegetativ formering er effektiv og vil være et værdifuldt redskab i forædling og produktion af nordmannsgran. Ved etablering af klonforsøg med et større antal kloner, vil det være muligt at udvælge kloner, der er af langt bedre salgsmæssig kvalitet end gennemsnittet af frøformerede planter.

Fremtiden

Metoderne er efter 25 års arbejde ved at være modne til afprøvning i kommerciel produktion. Udviklingsarbejdet retter sig derfor imod to forskellige forhold.

For det først skal der etableres yderligere markforsøg til udvælgelse af det bedste plantemateriale. I et samarbejde med Majland A/S er der i 2011 indsamlet frø fra 27 udvalgte træer i Georgien og i 2012 fra yderligere 21 træer i Ambrolauri/Nikordsminda og Boller plantage. I løbet af de seneste to år er der produceret cirka 15.000 planter fra 550 kloner fra disse indsamlinger. Klonerne er nedfrosset i en genbank, og planterne dyrkes i øjeblikket i drivhus på Fyn (figur 1, foto E og F). Forventningen er at etablere forsøg med 4.000 planter fra 100 kloner i efteråret 2014 og resten i efteråret 2015. Det er vigtigt, at etablere forsøg med så mange kloner som muligt, og håbet er at finde samarbejdspartnere og finansiering, så der kan etableres markforsøg med langt flere kloner i de kommende år.

Ud over form og vækst vil parametre som resistens over for skadegivere som lus og svamp, sygdomskomplekset 'røde nåle', kuldetolerance og tilpasning til forskellige klima og jordbundforhold indgå i udvælgelsen af plantemateriale til fremtidens produktion af Juletræer. Derudover vil det blive undersøgt, hvor stor effekt den familiemæssige baggrund har for ovennævnte vækstparametre i kloner fra samme familie.

For det andet skal produktionsprisen per plante reduceres. Det skal ske igennem en effektivisering og mekanisering af de enkelte trin i produktionen. Dette indebærer at metoderne skal etableres i et produktionslaboratorium og en automatisering af de mest arbejdskrævende processer (Find et al. 2007). Det er et område,

der er arbejdet med i flere år, men som bør opprioriteres, så en egentlig produktion kan etableres, når elitekloner er identificeret i markforsøgene. Der er udvalgt et mindre antal kloner, som skal bruges til effektivisering og produktion i større målestok.

Klonede planter vil indgå i en række videnskabelige undersøgelser af den genetiske kontrol af vækst og udvikling af nordmannsgran. Herunder også undersøgelser af den genetiske baggrund for angreb af skadegivere som *neonectria* og lus.

Håbet er derudover at udvikle tilsvarende metoder til andre arter som nobilis og klippeædelgran

Tak

Vi vil gerne takke Lundbygård Gods for at anlægge og passe demonstrationsforsøget. Gluds legat og PAF finansierede laboratoriedelen af planteproduktionen, og Majland A/S har medfinansieret udviklingsarbejdet fra 2011 indtil udgangen af 2013. Ulrich Hansen passede og plejede planterne i væksthuse, indtil de kunne plantes ud i marken.

Referenser:

- Find, J.I., Kristensen, M.M.H. & Krogstrup, P. (2002a). Vegetativ formering - en genvej til idealmålene, PS Nåledrys 42, 11-16.
- Find J.I., Kristensen M.M.H., Krogstrup P. and Walter C. (2002b). Genteknologi og Juletræer. PS Nåledrys 42, 4-10
- Find, J.F., Kristensen, M. M. H., Krogstrup P., Nielsen M.T., Schwartz A.D., Hermansen P. (2007). HiTech juletræer - Robotterne kommer! Nåledrys 60: 9-12.
- Nørgaard, J.V. and P. Krogstrup (1991). Cytokinin induced somatic embryogenesis from immature embryos of *Abies nordmanniana* Lk. Plant Cell Reports 9: 509-513.
- Thomsen I.M., Pedersen L.B., Talgø V. (2014). *Neonectria* Best Practice. Nåledrys 88: 4-7 ■

Jens I. Find er leder af Vævskulturlaboratoriet, som i 2013 er blevet integreret som en del af Institut for Geovidenskab og Naturforvaltning (IGN), og dermed skovbrugsforskningen på Københavns Universitet. Arbejdsområdet omfatter udvikling af bioteknologiske metoder til forædling af skovtræer. Nordmannsgran har været et særligt indsatsområde, hvor forskningsresultater i en årrække er forsøgt omsat til praktisk anvendelige metoder for erhvervet.



Jens I. Find
Institut for Geovidenskab
og Naturforvaltning, Skov,
Natur og Biomasse,
Vævskulturlaboratoriet, KU,
Rolighedsvej 23,
1958 Frederiksberg C.
Tlf. +45 51489403,
e-mail jensf@ign.ku.dk